

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Amin Elsadig Eltayeb Habora
審査委員	主査 田中 淨 (印) 副査 森嶋伊佐夫 (印) 副査 柴田 均 (印) 副査 滝本 晃一 (印) 副査 辻本 壽 (印)
題目	Improving plant tolerance to environmental stresses by overexpression and identification of stress tolerance genes
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>アジア、アフリカ、オーストラリアなどの広大な乾燥地の緑化、作物栽培を図る上で、遺伝子組換え技術の利用は急務である。また、従来法による乾燥耐性作物を育種する上で、乾燥耐性の有効なマーカー遺伝子を見出すことが重要である。本研究は植物の主要な抗酸化物質であるアスコルビン酸再生系酵素を遺伝子組換えにより過剰発現させることにより、乾燥や高塩耐性が向上することを示した研究である。また、作物の乾燥耐性を向上させるケイ酸により誘導される新規の遺伝子の同定についても検討された。</p> <p>アスコルビン酸 (ビタミン C) は、オゾン、塩、乾燥の様な環境ストレスにより曝されることで生じる酸素ストレスから植物を防御する強力な抗酸化物質である。デヒドロアスコルビン酸還元酵素 (DHAR; EC 1.8.5.1) とモノデヒドロアスコルビン酸還元酵素 (MDAR; EC 1.6.5.4) は、アスコルビン酸再生の中心的な役割を担い、アスコルビン酸 (AsA) の還元プールの維持に必須である。DHAR と MDAR の過剰発現により環境ストレスの有害な効果が最小限になりうるかどうかを調べるために、我々はシロイヌナズナから単離した細胞質型の DHAR、もしくは MDAR の遺伝子を過剰発現する形質転換タバコを作出した。形質転換タバコのゲノムへの遺伝子導入は PCR とサザンブロット分析により、また発現をノーザンブロット分析とウエスタンブロット分析により確かめた。</p> <p>DHAR 形質転換植物は、野生型植物と比較して 2.3 から 3.1 倍高い DHAR 活性と、1.9 から 2.1 倍高い還元型 AsA 量を示した。これらの形質転換植物は、AsA の還元状態を維持しており、十分に高い光合成量を示したという点で、オゾン、乾燥、塩、そしてポリエチレングリコール (PEG) によるストレスに対する耐性が向上していた。</p> <p>MDAR 形質転換植物は、野生型植物と比較して 2.1 倍高い MDAR 活性と、2.2 倍高い還元型 AsA 量を示した。これらの形質転換植物では、十分に高い光合成量を示したという点で、オゾン、乾燥、塩、そして PEG によるストレスに対する耐性が向上しており、オゾンと塩ストレス下では高い PSII の有効量子収量を示した。さらに、これらの形質転換植物では、塩ストレス下で細胞内の過酸化水素レベルが十分に低下していることを示した。これらの結果は、細胞質での DHAR もしくは MDAR の過剰発現による AsA レベルの増加により、オゾン、乾燥、そして塩ストレスに対する耐性が向上していることを示している。</p>	

植物の環境ストレスに対する耐性のメカニズムをさらに調べるために、我々は Suppression Subtraction Hybridization (SSH)法を用いてキュウリ (*Cucumis sativus* L.) から塩や乾燥ストレス下でケイ酸により誘導される耐性遺伝子を同定する事を試みた。ケイ酸は、植物の生物的、及び非生物的ストレスに対する耐性向上のために有益な元素としてよく知られている。乾燥、もしくは塩ストレス下でケイ酸施与した、もしくはしないで生育させたキュウリの葉の組織より単離した mRNA を用いて SSH ライブラリーを構築した。2つのサンプル間で差し引きしたプローブを用いて行ったディファレンシャルスクリーニングにより、得られた遺伝子断片の発現量の差をさらに確認した。20個のクローンから、キュウリのアクアポリン、及びカルシウム結合タンパク質をコードする遺伝子が、乾燥、もしくは塩ストレス下でケイ酸処理により発現量の差を示す事を明らかにした。これらの結果は、植物のストレス耐性の向上におけるケイ酸の有効な効果が、ケイ酸によるストレス環境下でのこれらの遺伝子の誘導によるものであると示唆する。

以上のように、本研究は新規性に富み、将来の発展につながる内容を多く含み、学位論文として十分な価値があるものと判断した。